



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ASPECTO MICROBIOLÓGICO E PARASITOLÓGICO DE ALFACE LISA
(*Lactuca sativa* L.) PRODUZIDA EM SISTEMA CONVENCIONAL POR
HORTIGRANJEIROS DO SERTÃO PARAIBANO**

LAMARTINE JOSÉ BRITO MEDEIROS

**PATOS
2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS – PB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**ASPECTO MICROBIOLÓGICO E PARASITOLÓGICO DE ALFACE LISA
(*Lactuca sativa* L.) PRODUZIDA EM SISTEMA CONVENCIONAL**

**Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Campina
Grande, como parte das exigências
do Programa de Pós-Graduação em
Zootecnia para a obtenção do título
de mestre.**

LAMARTINE JOSÉ BRITO MEDEIROS

Orientador: Prof^ª. Dra. Ana Célia Rodrigues Athayde

**PATOS
2017**

M488a Medeiros, Lamartine José Brito.

Aspecto microbiológico e parasitológico de alface lisa (*Lactuca sativa* L.) produzida em sistema convencional por hortigranjeiros do Sertão Paraibano. / Lamartine José Brito Medeiros. - Patos - PB: [s.n], 2017.

51 f.

Orientadora: Professora Dr^a Ana Célia Rodrigues Athayde.

Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Zootecnia) - Universidade Federal de Campina Grande; Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

1. Alface Lisa. 2. Hortaliças - microbiologia. 3. Hortaliças - parasitologia. 4. Perfil microbiológico do alface. 5. Perfil parasitológico do alface. 6. *Lactuca sativa* L.I. Athayde, Ana Célia Rodrigues de. II. Título.

CDU:635.1/.8(043)

LAMARTINE JOSÉ BRITO MEDEIROS

**ASPECTO MICROBIOLÓGICO E PARASITOLÓGICO DE ALFACE LISA
(*Lactuca sativa L.*) PRODUZIDA EM SISTEMA CONVENCIONAL POR
HORTIGRANJEIROS DO SERTÃO PARAIBANO**

FICHA DE AVALIAÇÃO

Aprovada em: __/__/__

Comissão Examinadora:

Prof^a. Dra. Ana Célia Rodrigues Athayde
UACB/CSTR/UFCG (Orientadora)

Prof^a. Dra. Maria das Graças Veloso Marinho
UACB/CSTR/UFCG

Dr. Onaldo Guedes Rodrigues
UACB/CSTR/UFCG

Dedicatória:

Dedico e agradeço a *Deus*, pelo dom da vida, sabedoria, e paz no coração, pelas bênçãos em cada passo, pela força extrema que só ele pode me oferecer;
Aos meus pais (*José Damasio e Ana Lucia*), a minha noiva (*Emanuella Nóbrega*) as
Minhas irmãs (*Nara Lucia e Amanda Raquel*) exemplos de caráter e dignidade.
Pessoas que vibram com as minhas conquistas e sempre acreditam em mim, mesmo quando parecia impossível, eles são responsáveis por tudo que fiz e por eles cheguei até aqui, e por eles seguirei em frente.

AMO VOCÊS.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por tudo que a mim foi concedido.

Aos meus pais, José Damasio e Ana Lucia, por serem os responsáveis pelas minhas conquistas e constituírem o meu ponto forte de apoiarem todos os caminhos aos quais não posso trilhar sozinho e pelo investimento conferido a mim em todos os aspectos como ser humano.

A minha noiva, Emanuella Nóbrega, pessoa que sempre acreditou que eu poderia ir mais longe e sempre apoiando nas minhas decisões e foi e sempre será minha eterna companheira.

As minhas irmãs, Amanda Raquel e Nara Lucia, pela amizade, companheirismo e auxílio na tomada de decisões importantes.

Agradeço à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste mestrado.

A todos os meus colegas que colaboraram para a realização desta pesquisa, por tudo que vivemos, momentos de companheirismo, amizade, divertimento, que irão ficar em nossa memória para sempre.

A todos os professores que me guiaram nessa jornada, em especial a banca examinadora (Dr. Onaldo Guedes e Dra. Maria das Graças), diante da qualidade e competência dos mesmos.

Aos professores Wilson Wouflan e Rosália Medeiros, profissionais que sempre estiveram ao meu lado durante a realização desta pesquisa. Agradeço pelo companheirismo, ensinamentos, disponibilidade, confiança e oportunidade de orientar em todo o decorrer deste trabalho.

A professora Ana Célia Rodrigues Athayde, pela orientação e acolhimento, ajudando-me dentro de suas possibilidades na realização desta pesquisa.

Aos funcionários dos laboratórios de Parasitologia e Microbiologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, pela essencial participação neste trabalho por meio das análises das amostras.

Aos produtores rurais de Patos e Teixeira, pois sem a disponibilidade destes, não seria possível a realização desta investigação.

Enfim, a TODOS que participaram direto ou indiretamente na realização de mais um grande sonho.

RESUMO

As hortaliças têm sido um dos alimentos mais relacionados a surtos de toxinfecção alimentar em nível mundial, especialmente por serem incriminadas como veículos de microrganismos patogênicos de significância na saúde pública. Nesse contexto, este trabalho teve como objetivo avaliar o perfil microbiológico e parasitológico em alfaces dos Municípios de Patos e Teixeira no sertão Paraibano. Foram realizadas análises microbiológicas e parasitológicas em 30 amostras de alface (*Lactuca sativa* L.), sendo 15 amostras coletadas em propriedades rurais do município de Patos e 15 no município de Teixeira. Desse total, constatou-se que 60% (9) das amostras de alface coletadas no município de Patos estava em níveis insatisfatórios, enquanto que no município de Teixeira 90% (14) foram satisfatórias ao consumo de acordo com Resolução - RDC nº12 de 02 Janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, que preconiza as hortaliças cruas, preparadas para o consumo direto, não podem conter *Salmonella* spp/25g do produto e Coliformes Termotolerantes acima de 10^2 UFC/g. Amostras de ambos os municípios, apresentaram formas imaturas de nematódeos e protozoários e constatou-se que as amostras de alfaces estavam contaminadas por estruturas de parasitos de cães como o *Toxocara* spp. e *Ancylostoma* spp. e protozoários como Giardia e Toxoplasma. É necessário estudos mais aprofundados rastreando todo o sistema de produção, consistindo em analisar a qualidade da água utilizada para irrigação, quantidade de insumos (matéria orgânica), higiene e orientação dos manipuladores.

Palavras-Chave: vegetais, parasitos, coliformes, higiene dos alimentos.

ABSTRACT

Vegetables have been one of the most food-related food-borne outbreaks worldwide, especially as they have been implicated as vehicles of pathogenic microorganisms of public health significance. In this context, the objective of this work was to evaluate the microbiological and parasitological profile in lettuces of the Municipalities of Patos and Teixeira in the Paraíba hinterland. Microbiological and parasitological analyzes were carried out on 30 lettuce (*Lactuca sativa* L.) samples, 15 of which were collected on rural properties in the municipality of Patos and 15 in the municipality of Teixeira. Of this total, 60% (9) of the lettuce samples collected in the municipality of Patos were at unsatisfactory levels, while in the municipality of Teixeira 90% (14) were satisfactory to consumption according to Resolution - RDC No. 12 Of January 2, 2001 of the National Agency of Sanitary Surveillance - ANVISA, which recommends raw vegetables, prepared for direct consumption, can not contain *Salmonella* spp / 25g of the product and thermotolerant Coliforms above 10^2 CFU / g. Samples from both municipalities presented immature forms of nematodes and protozoa and it was found that the lettuce samples were contaminated by structures of parasites of dogs such as *Toxocara* spp. And *Ancylostoma* spp. And protozoa such as *Giardia* and *Toxoplasma*. Further studies are needed to track the entire production system, consisting of analyzing the quality of the water used for irrigation, the amount of inputs (organic matter), hygiene and the orientation of the manipulators.

Keywords: vegetables, parasites, coliforms, food hygiene.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	12
REFERÊNCIAS.....	16
CAPÍTULO I	18
Caracterização microbiológica e parasitológica de alface lisa (<i>Lactuca sativa</i> L.) produzida por hortigranjeiros do Sertão Paraibano	19
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
CONCLUSÃO	26
REFERÊNCIAS.....	26
CAPÍTULO II	29
Análise microbiológica e parasitológica de alface lisa (<i>lactuca sativa</i> l.) oriundas de sistemas de produção convencional do Município de Teixeira, semiárido Paraibano	30
Introdução	30
Material e Métodos.....	31
Resultados e Discussão.....	33
Conclusões	36
Referências.....	36
CONCLUSÃO GERAL	39
ANEXOS	40

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1** Análises parasitárias encontradas nas amostras de alface (*Lactuca sativa* L.) em propriedade no municípios de Patos-PB.... 23
- Tabela 2** Resultados das análises dos microrganismos coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella spp* pesquisados na alface-lisa (*Lactuca sativa* L). Patos-PB, 2017..... 24

CAPÍTULO II

- Tabela 1** Resultados das análises dos microrganismos coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella spp* pesquisados na alface (*Lactuca sativa*). Teixeira-PB, 2017..... 33
- Tabela 2** Estruturas parasitárias encontradas nas amostras de alface por propriedade. Teixeira-PB, 2017..... 35

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

- Figura 1** Localização geográfica das propriedades rurais visitadas na microrregião de Patos, Sertão Paraibano segundo a presença de animais bipartidos e não bipartidos. Patos-PB, 2017. (Projeção: Coordenadas Geográficas/ Datum: SIRGAS2000/ SIG: QGIS 2.14.0-Essen)..... 35

LISTA DE ABREVIATURA/SIGLAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CDC - Center of Disease Control

DTAs - Doenças Transmitidas por Alimentos

EMB - Ágar Eosina Azul de Metileno

LST - Caldo lauril sulfato

NMP - Número Mais Provável

PCA - Ágar Padrão para Contagem

UFCG - Universidade Federal de Campina Grande

VBLB - Caldo verde brilhante lactose bile

INTRODUÇÃO GERAL

O crescimento populacional e a tendência de mudança no hábito alimentar do consumidor têm feito a cada dia aumentar o consumo de hortaliças. Este público é exigente, o que torna necessário produzi-la em quantidade e qualidade o ano inteiro (ARBOS et al., 2010).

Dentre as diferentes hortaliças, a alface é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo (SALA; COSTA, 2012). A alface (*Lactuca sativa*), pertencente à família Asteraceae, é uma planta originária da Ásia e trazida para o Brasil pelos portugueses no século XVI. Além de serem fontes de fibras, vitaminas e minerais (RODRIGUES, 2012; FIGUEIRA, 2000), é de fácil aquisição, tem bom sabor, qualidade nutritiva (rica em sais de cálcio e de ferro, vitaminas B1, B2, B6, C e pró-vitamina A) e possui propriedades laxativas, diuréticas e lenitivas, além de propiciar sabor agradável e refrescante (KESKINEN et al., 2009).

Contudo, em todo o mundo, há uma elevada incidência de doenças parasitárias de grande importância para a saúde pública que afetam, principalmente, as comunidades mais pobres de países em desenvolvimento. Entre as doenças parasitárias, as enteroparasitoses são as mais comuns. crescimento (FARIAS et al., 2008, PAULA et al., 2003). Elas são adquiridas pela ingestão das formas infectantes de helmintos e/ou protozoários, que podem ser ovos, larvas, cistos ou oocistos, contidas em alimento ou água contaminada. As hortaliças consumidas cruas podem servir como meio de transmissão dessas formas parasitárias (VOLLKOPF et al., 2006).

A questão da segurança alimentar tem sido tema pertinente não apenas em estudos científicos, como também nas questões de ordem político-econômico dos países de todo o mundo (MARINS et al., 2014).

Os surtos de toxinfecções alimentares são uma preocupação mundial. Calcula-se que de 1 a 100 milhões de pessoas no mundo contraem toxinfecções decorrentes do consumo de alimentos e água anualmente (Germano et al., 2000; MOSSEL et al., 1999). Apesar de exaustivos esclarecimentos sobre higiene dos alimentos visando à prevenção de doenças de origem alimentar, a incidência de surtos e casos esporádicos de

toxinfecções continua a crescer. Nos Estados Unidos, o CDC (Center of Disease Control) registrou 103 surtos de toxinfecção entre 1973 e 1991, atingindo cerca de 6082 pessoas (EVERS, 1996). A situação tende a ser mais grave em países em desenvolvimento como o Brasil, nos quais as condições precárias de infra-estrutura e educação sanitária facilitam a proliferação desta problemática. Além do risco à saúde da população, este quadro gera também perdas econômicas tendo em vista que as toxinfecções alimentares, muitas vezes, ocasionam o afastamento do indivíduo de seu trabalho, dentre outras consequências.

Para garantir a qualidade do produto, é importante considerar que todas as etapas estão envolvidas, desde a produção até o consumo do alimento. Dentro deste universo de fatores, grande parte dos problemas estão ligados a descuidos com a saúde dos manipuladores, falta de higiene no manuseio e ausência de preservação adequada dos alimentos (SILVA JR, 2013).

A realização de análises microbiológica e parasitológica de hortaliças é utilizada para identificar as bactérias da família Enterobacteriaceae e parasitas intestinais do homem, através da pesquisa das diferentes formas infecciosas que são liberadas nas fezes, tornando-se assim de grande importância para a Saúde Pública (ALVES et al., 2013) por fornecer dados do estado de higiene das hortaliças permitindo assim o controle das condições em que foram cultivadas, armazenadas e preparadas para o consumo. Já o exame microbiológico permite a identificação da espécie bacteriana e o exame parasitológico de alfaces propicia a visualização de estruturas parasitárias como ovos e larvas de helmintos bem como cistos de protozoários através do método de sedimentação por centrifugação (ABREU et al., 2010).

Dessa forma, considerando o interesse pelo consumo alimentar de hortaliças e a preocupação com a qualidade desses alimentos, são necessários estudos investigativos quanto a ocorrência de contaminação microbiológica e parasitológica em alface lisa (*Lactuca sativa L.*) que possibilite a obtenção de maiores informações sobre os agentes causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) nos municípios estudados.

As análises seguem a Resolução - RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2001), onde

estabelece que hortaliças cruas, preparadas para o consumo direto, não devem apresentar *Salmonella* spp/25g do produto e Coliformes Termotolerantes acima de 102 UFC/g (PAIVA, 2011).

A presente dissertação é composta por dois capítulos. O primeiro capítulo por um artigo cujo objetivo foi avaliar o perfil microbiológico e parasitológico de hortaliças produzidas por hortigranjeiros do Município de Patos no sertão Paraibano, que foi submetido à revista *Ciência e Agrotecnologia*. O segundo capítulo é composto por artigo que teve como objetivo investigar a ocorrência de contaminação microbiológica e parasitológica em alface lisa (*Lactuca sativa* L.) provenientes de sistema convencional no município de Teixeira, semiárido da Paraíba, Brasil e está nas normas da revista *Pesquisa Agropecuária Brasileira*.

REFERÊNCIAS

ABREU I. M. O. et al. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.30, n.1,p.108-18, 2010.

ALVES, A. S. et al. Parasitos em alface-crespa (*lactuca sativa* L.), de plantio convencional, comercializada em supermercados de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**. v.42, n.2, p. 217-22, 2013.

ARBOS K. A. et al. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v.30, n.1, p.215-20, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA. **Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Dispõe sobre regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos.

EVERS, B. Foodborne safety and infection. **Food Chemical News**. v.6, n.9, 1996.

FARIA, G.F. et al. Frequência de enteroparasitos em amostras de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas em feiras livres na cidade de Ipatinga, Minas Gerais. **Rev Digital de Nutrição** [Internet]. 2(2), 2008. Disponível em:<http://www.unilestemg.br/nutrirgerais/downloads/artigos/frequencia_entero_parasitos_amostras_alfaces.pdf>.

FIGUEIRA, F. A. R. Asteráceas - alface e outras hortaliças herbáceas. In: Novo manual de olericultura: **Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000. v.1, p.289-295.

GERMANO, M. I. S. et al. Manipuladores de Alimentos: Capacitar? E preciso. Regulamentar? Será preciso? **Higiene Alimentar**. v.14, n.78/79, 2000.

KESKINEN, L. A. et al. Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 from lettuce leaves. **International Journal of Food Microbiology**. v.132, n.2, p.134-40, 2009.

MARINS B. R. et al (Org.). **Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio; 2014. 288 p.

MOSSEL, D. A. A. et al. Microbiological safety assurance applied to smaller catering operations world-wide. **Food Control**. v.10, p.195-211, 1999.

PAIVA, J. L.; Avaliação microbiológica da alface (*Lactuca sativa*) em sistema de cultivo hidropônico e no solo, correlacionando os microrganismos isolados com os encontrados em toxinfecções alimentares em municípios da região Noroeste de São Paulo – SP. **Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista**. p. 115. 2011.

PAULA, P. et al. Contaminação microbiológica e parasitológica em alfaces (*Lactuca sativa*) de restaurantes self-service, de Niterói, RJ. **Rev Soc Bras Med Trop**. v.36, p.535-537, 2003.

RODRIGUES, D. G. et al. Avaliação de dois métodos de higienização alimentar. **Revista Saúde e Pesquisa**. v.4, n.3, p.341-350, 2011.

SALA F.C.; COSTA C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**. v.30, n.2, p.187-94, 2012.

SILVA JUNIOR, E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6a ed. São Paulo: Varela; 2013.

VOLLKOPF, P.C.P. et al. Ocorrência de enteroparasitos em amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Porto Murtinho-MS. **Arq Ciên vet zool**. v.9, p.37-40, 2006.

CAPÍTULO I

Caracterização microbiológica e parasitológica de alface lisa (*Lactuca sativa* L.) produzida por hortigranjeiros do Sertão Paraibano

Manuscrito submetido ao periódico Ciência e Agrotecnologia

Caracterização microbiológica e parasitológica de alface lisa (*Lactuca sativa* L.) produzida por hortigranjeiros do Sertão Paraibano

*Microbiological and parasitological characterization of smooth lettuce (*Lactuca sativa* L.) produced by horticultural workers of Sertão Paraibano*

Lamartine José Brito Medeiros¹, Pablo da Costa Sousa¹, Álison José Damasceno Morato¹, Rosália Medeiros Severo¹, Wilson Wouflan Silva^{1*}, Ana Célia Rodrigues Athayde¹

RESUMO

A produção de hortaliças no Brasil tem uma alta rotatividade, onde a necessidade de uma produção de agricultura familiar se adequar a padrões de higiene de produção para produtos *in natura* eleva a preocupação de consumidores com a probabilidade de contaminação destes. Nesse contexto, o estudo teve como objetivo avaliar o perfil microbiológico e parasitológico em alfaces do Município de Patos no sertão Paraibano. Foram coletadas e avaliadas 15 amostras de alface lisa (*Lactuca sativa* L.) de plantio convencional em três propriedades para a realização de exames microbiológicos e parasitológicos. Com isso, foi observado a presença de formas imaturas de nematódeos e protozoários. Constatou-se que as amostras alfaces estavam contaminadas por estruturas de parasitos de cães como o *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.* e protozoários como *Giardia* e *Toxoplasma gondii*. Quanto à análise microbiológica, constatou-se que 60% (09) das amostras de alface estava em níveis insatisfatórios, devido a presença de coliformes totais e termotolerantes. Conclui-se que a falta de cumprimento de exigências da ANVISA leva a um alto risco de propagação de doenças e a pesquisa revela a dependência de novas investigações para se chegar ao foco, adotando medidas de controle.

Termos para indexação: hortaliças, perfil sanitário, parasitos, coliformes, higiene dos alimentos.

ABSTRACT

Vegetable production in Brazil has a high turnover, where the need for a family farming production to meet production hygiene standards for *in natura* products raises the concern of consumers with the likelihood of contamination of these. In this context, the objective of the study was to evaluate the microbiological and parasitological profile in lettuces of the Municipality of Patos in the Paraíba hinterland. Fifteen samples of plain

lettuce (*Lactuca sativa* L.) from conventional plantation were collected and evaluated in three properties for microbiological and parasitological exams. With this, the presence of immature forms of nematodes and protozoa was observed. It was found that the lettuce samples were contaminated by structures of parasites of dogs such as *Toxocara* spp. And *Ancylostoma* spp. And protozoa such as *Giardia* and *Toxoplasma gondii*. Regarding the microbiological analysis, it was verified that 60% (09) of the lettuce samples were at unsatisfactory levels, due to the presence of total and thermotolerant coliforms. It is concluded that the lack of compliance with ANVISA requirements leads to a high risk of disease spread and the research reveals the dependence of new investigations to reach the focus, adopting control measures.

Index terms: vegetables, health profile, parasites, coliforms, food hygiene.

INTRODUÇÃO

A tendência mundial é de mudanças no hábito alimentar do consumidor e tem feito a cada dia aumentar o consumo de hortaliças. Conseqüentemente a exigência é enorme com relação a qualidade e quantidade produzida o ano inteiro (Arbos et al., 2010). Em meio as diferentes hortaliças, a alface é considerada a hortaliça folhosa mais importante na alimentação dos brasileiros, o que assegura à espécie expressiva importância econômica e social (Sala e Costa, 2012).

A alface é produzida para o consumo de suas folhas e seu cultivo vem sendo praticado na forma tradicional, hidropônica e orgânica, podendo essas influenciar no perfil microbiológico e parasitológico deste produto (Keskinen et al., 2009). A contaminação de um alimento pode ocorrer em qualquer fase da produção, podendo ter origem na fase primária como resultado da contaminação de equipamentos e do ambiente (solo, água e ar), durante a pré-colheita e pela presença de animais (Holvoet et al., 2014).

As doenças transmitidas por alimentos tornaram-se um problema recorrente nos últimos anos (Abreu et al., 2010). As estatísticas demonstram que em praticamente todas as partes do mundo existe elevado número de casos de enfermidades transmitidas por alimentos. Mesmo em países com elevado padrão de vida, doenças alimentares têm contribuído para o aumento da taxa de doenças infecciosas (Evers, 1996).

A questão da segurança alimentar tem sido tema pertinente não apenas em estudos científicos, como também nas questões de ordem político-econômico dos países de todo o mundo (Marins et al., 2014).

A realização de análises microbiológica e parasitológica de hortaliças é utilizada para identificar as bactérias da família *Enterobacteriaceae* e parasitas intestinais do homem, através da pesquisa das diferentes formas infecciosas que são liberadas nas fezes, tornando-se assim de grande importância para a Saúde Pública (Alves et al., 2010) por fornecer dados do estado de higiene das hortaliças permitindo assim o controle das condições em que foram cultivadas, armazenadas e preparadas para o consumo. Já no exame microbiológico permite a identificação da espécie bacteriana e o exame parasitológico de alfaces propicia a visualização de estruturas parasitárias como ovos e larvas de helmintos bem como cistos de protozoários através do método de sedimentação por centrifugação (Abreu et al., 2010).

Nesse contexto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar o perfil microbiológico e parasitológico em alfaces produzidas por hortigranjeiros do Município de Patos no sertão Paraibano, como forma de obter maiores informações sobre os agentes causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs).

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho, foram analisadas 15 amostras de alfaces-lisa (*Lactuca sativa* L.) de plantio convencional, adquiridas de três propriedades diferentes na zona rural do município de Patos-PB.

As amostras foram coletadas, identificadas, acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso e encaminhadas em caixa isotérmicas (Falavigna et al., 2005) para realização das análises microbiológica e parasitológica nos Laboratórios de Microbiologia e Parasitologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) - Patos.

Cada amostra foi desfolhada, desprezando as folhas queimadas, danificadas e talos. Cada folha foi lavada com 100ml de água destilada, o líquido resultante da lavagem foi filtrado em gaze sob um cálice de sedimentação e foi completado com água destilada até o volume de 1000ml, deixado em repouso por 24 horas. Logo após o tempo de sedimentação, foram preparadas lâminas para cada uma das amostras, em duplicata e analisadas ao microscópio óptico em aumento de 10x. Em seguida à leitura das lâminas, foi realizada a tabulação dos dados para melhor visualização e entendimento dos

resultados. Para a identificação das estruturas parasitárias foram realizadas de acordo com Ueno e Gonçalves (1994).

As análises microbiológicas seguiu-se o recomendado por Standard Methods (Silva et al., 2007). Pesou-se asépticamente 10 gramas de cada amostra e foi misturada a 90 ml de água peptonada a 0,1% esterilizada até a homogeneização, obtendo-se assim a diluição de 10^{-1} . A partir dessa diluição, foram realizadas as demais diluições em série até a obtenção da diluição 10^{-5} , transferindo-se 1 mL de cada diluição para tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1%.

O teste presuntivo de coliformes foi feito por meio da técnica do Número Mais Provável (NMP). Utilizou-se o caldo lauril sulfato (LST) em concentração simples. Três séries de três tubos contendo o caldo LST com tubos de Durhan invertidos foram inoculadas com 1 mL das diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . Incubaram-se os tubos a 36°C por 24 - 48 h. Após o tempo de incubação, a suspeita da presença de coliformes foi verificada nos tubos com formação de gás em fração de no mínimo 1/10 dos tubos de Durhan. Para o teste confirmativo de coliformes totais, repicou-se cada tubo positivo, na prova presuntiva, para tubos contendo caldo verde brilhante lactose bile (VBLB) 2%, seguida de incubação a $37^{\circ}\text{C}/24$ ou 48 h, a confirmação se deu de forma idêntica a da prova presuntiva.

Para o teste confirmativo de coliformes termotolerantes, repicou-se cada tubo positivo no teste presuntivo para o caldo EC com tubos de Durhan invertidos e incubaram-se os tubos por 24 h a 45°C , a confirmação foi feita igual à prova presuntiva. O número mais provável foi estimado usando a tabela específica para o teste na faixa 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , considerando os valores encontrados uma casa decimal anterior e multiplicando o resultado por 1000.

A pesquisa de *E. coli* foi realizada através da repicagem para Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), incubada a $35-37^{\circ}\text{C}/24$ h para observação do crescimento de colônias típicas de *E. coli*. A confirmação de *E. coli* foi realizado através da coloração de Gram e de testes bioquímicos, a partir de colônias puras crescidas em Ágar Padrão para Contagem (PCA) a $35^{\circ}\text{C}/24$ h. Os testes bioquímicos utilizados foram: Indol, Voges-Proskauer, Citrato e Vermelho de metila.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada de acordo com as metodologias analíticas descritas em compêndios oficiais (Bacteriological Analytical Manual Online, 2001) afim de verificar a ausência ou presença em 25g da amostra que foi homogeneizada em água peptonada tamponada incubada a 35°C durante 24 horas.

Os dados da análise microbiológica foram agrupados e tratados pelo programa Excel® para estabelecimento de frequência simples e percentual.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método de sedimentação revelou a presença de formas imaturas de nematódeos e protozoários (Tabela 1). Pela morfologia dos ovos e cistos, constatou-se que as amostras alfaces estavam contaminadas por estruturas de parasitos de cães como o *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.* e protozoários como Giardia e Toxoplasma (Tabela 1).

Tabela 1: Análises parasitárias encontradas nas amostras de alface (*Lactuca sativa* L.) em propriedades no município de Patos-PB, 2017.

PARASITOS ENCONTRADOS	PROPRIEDADES		
	01	02	03
<i>Toxocara spp.</i>	P	P	P
<i>Ancylostoma spp.</i>	P	P	P
<i>Ascaris Sp.</i>	A	P	P
Cistos de <i>Giardia sp.</i>	P	A	P
Oocisto de <i>Toxolasma</i>	A	A	P

Legenda: a: ausente; P: Presente

Trabalhos realizados no Brasil com hortaliças tem demonstrado a presença diversas estruturas parasitaria (Falavigna et al., 2005, Gharavi et al., 2002). Entre os parasitos contaminantes da alface, os gêneros *Ascaris sp.* e *Ancilostoma spp.*, foram os que apresentaram maior incidência indicando contaminação de origem fecal humana e/ou animal (Oliveira e Germano, 1992; Santana et al., 2006).

A presença de oocistos de *Toxplasma* revela a importância que se deve ter com a higienização dos alimentos. A toxoplasmose é uma zoonose com grande impacto em saúde pública devido às graves consequências em humanos, devendo atentar-se com a segurança alimentar. Cabe lembrar que, a infecções por ingestão de oocistos podem ser consideradas comuns (Gotteland et al, 2014) e mais severas do que a ingestão de cistos teciduais (Jones e Dubey, 2010).

Quanto à análise microbiológica, constatou-se que sessenta por cento das amostras de alface estava em níveis insatisfatórios de acordo com Resolução - RDC de nº 12 de 02 janeiro de 2001, da ANVISA (BRASIL, 2001), devido a presença de coliformes totais e termotolerantes (Tabela 2).

Tabela 2 - Resultados das análises dos microrganismos coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella spp* pesquisados na alface-lisa (*Lactuca sativa* L). Patos-PB, 2017

Fonte	Microrganismos				
	Col. Totais (NMP/g)	Col. termotolerantes (NMP/g)	Resol. N° 12 jan. de 2001	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella ssp.</i>
Produtor 1					
1	11,0	≥ 24	Insatisfatório	-	ausência em 25g
2	2,0	2,0	Insatisfatório	-	ausência em 25g
3	24,0	9,3	Insatisfatório	-	ausência em 25g
4	0,93	9,3	Insatisfatório	-	ausência em 25g
5	4,6	0,43	Satisfatório	-	ausência em 25g
Produtor 2					
1	≥ 240	≥ 240	Insatisfatório	-	ausência em 25g
2	2,4	0,4	Insatisfatório	+	ausência em 25g
3	0,04	0,23	Satisfatório	-	ausência em 25g
4	2,4	0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
5	≥ 24	0,4	Insatisfatório	+	ausência em 25g
Produtor 3					
1	24	> 4,3	Satisfatório	-	ausência em 25g
2	≥ 24	1,2	Insatisfatório	+	ausência em 25g
3	11,0	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
4	11,0	3,3	Satisfatório	-	ausência em 25g
5	2,8	3,3	Insatisfatório	-	ausência em 25g

Legenda: Satisfatório: houve crescimento até a diluição de 10²; Insatisfatório: houve crescimento acima da diluição de 10²; (-) : negativo para *E. coli*; (+) : positivo para *E. coli*.

O alto nível de contaminação da alface provavelmente ocorreu devido ao manejo de produção podendo ter como fatores principais à manipulação, a água de irrigação e contato com o solo adubado, isso reflete as reais condições higiênico-sanitárias do ambiente e manejo, proporcionando informações valiosas para conscientizar todos os envolvidos, pois o grupo de bactérias identificadas podem ser encontradas na natureza e no intestino de mamíferos, inclusive o homem, podendo ser bactérias entéricas patogênicas.

Deve-se considerar que durante os meses de coleta a temperatura média do município estudado foi de 28,57°C e não foram registradas chuvas nesse período (AESAs, 2016). Por se tratar de um plantio convencional e depender das chuvas, na ausência desta, a solução é o uso irrigado com água. Esse fator provavelmente pode ter influenciado nos níveis de contaminação das amostras, já que a fonte de água mais utilizada na região é proveniente de açudes e na maioria das vezes essa água não passa por nenhum tratamento prévio.

Usualmente a alface é consumida crua tendo no processo de higienização o único tratamento recebido entre o cultivo e o consumo. Se os processos de limpeza e

sanificação forem conduzidos de forma inadequada, poderão propiciar a transmissão de diversas doenças (Rodrigues et al., 2011). Os microrganismos causadores de toxinfecções alimentares podem ser provenientes do local de produção da matéria-prima, ressaltando a importância de melhorias no sistema de manejo desses hortigranjeiros, através de cursos de capacitação para os produtores, bem como um sistema melhor de fiscalização pelos órgãos competentes (Arbos et al., 2010).

Não foi presenciada *Salmonella spp.* nas alfaces estando todas em conformidade com a legislação reportada. Trabalhos realizados Abreu et al. (2010) e Arbos et al. (2010) corroboram com esta pesquisa, pois também não evidenciaram *Salmonella spp.* em alfaces provenientes de cultivo com adubação orgânica plantadas em áreas experimentais. Por outro lado, Coelho et al. (2007) presenciaram estas bactérias em 6% das alfaces convencionais comercializadas nos supermercados do município de Cuiabá-MT, em março de 2007, consideradas impróprias ao consumo. Salmonela é considerada patogênica por causar infecções alimentares tendo ação invasiva ao intestino humano ao aderir à mucosa do mesmo. Assim, a RDC nº12/ 2016 não permite sua presença nas hortaliças folhosas como também em outros alimentos.

A presença de *E. coli* em algumas das amostras analisadas indica a necessidade de avaliar a procedência deste microrganismo, analisando todas as hipóteses, fornecimento de água, tipo de esterco e fornecedor, além das condições de saúde dos operários.

A *E. coli* é considerada o mais versátil de todos os patógenos bacterianos. Algumas cepas são membros importantes da microbiota intestinal normal no homem e animais, enquanto que outras possuem fatores de virulência importantes na infecciosidade do trato gastrointestinal e outras regiões do organismo, particularmente o trato urinário. As cepas causadoras de diarreia apresentam vários mecanismos patogênicos distintos e diferem em epidemiologia (Mims, et al. 1999).

Outros trabalhos também constataram, em hortaliças frescas e saladas cruas em restaurantes do padrão *self-service*, a presença de coliformes termotolerantes em níveis insatisfatórios quando comparados à legislação vigente (Abreu et al, 2010; Palú et al., 2002).

Para que o consumidor possa ingerir um produto seguro, deve-se fazer a desinfecção prévia das hortaliças com o objetivo de minimizar os riscos de transmissão de parasitos por estes alimentos (Ono et al., 2005). Uma das maneiras consideradas mais efetivas para a eliminação tanto de cistos de protozoários quanto de ovos de

helminthos, consiste na lavagem da alface com solução aquosa de cloro ou ácido cítrico em concentração de 100 mg/L a 200 mg/L ou vinagre diluído a 2% (Belinelo et al., 2009; Silva et al., 2005).

CONCLUSÃO

Mediante a metodologia aplicada, conclui-se que as alfaces-lisa (*Lactuca sativa* L.) produzidas por sistema convencional no município de Patos-PB, não atendem as exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), estando assim inaptos para fins de consumo *in natura*. É necessário estudos mais aprofundados rastreando todo o sistema de produção, consistindo em analisar a qualidade da água utilizada para irrigação, quantidade de insumos (matéria orgânica), higiene e orientação dos manipuladores.

REFERÊNCIAS

ABREU I. M. O. et al. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 30(supl 1):108-18, 2010.

AESA. **Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba**. 2016. Disponível em: <<http://www.aesa.pb.gov.br/aesa-website/meteorologia-chuvas/>>. Acesso em 15 abril 2017.

ALVES, A. S. et al. Parasitos em alface-crespa (*lactuca sativa* L.), de plantio convencional, comercializada em supermercados de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**. 42 (2): 217-22, 2013.

ARBOS K. A. et al. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 30(1):215-20, 2010.

Bacteriological Analytical Manual Online, 2001. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>>. Acesso em 15 abril 2017.

BELINELO V. J. et al. Enteroparasitas em hortaliças comercializadas na cidade de São Mateus, ES, Brasil. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**. 13:33-36, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA. **Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001**. Dispõe sobre regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos.

COELHO, E. M. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de alface (*Lactuca sativa* L.) em plantio direto e hidropônico. **Revista Higiene Alimentar**. 21(149) 94-98, 2007.

EVERS, B. **Foodborne safety and infection**. Food Chemical News. 6(9), 1996.
Experimental Parasitology, 124: 10-25, 2010.

FALAVIGNA L. M. et al. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. **Parasitol Latinoam**. 60:144-149, 2005.

GOTTELAND, C. et al. Spatial distribution of *Toxoplasma gondii* oocysts in soil in a rural area: Influence of cats and land use. **Veterinary Parasitology**. 205: 629-37, 2014.
HOLVOET, K. et al. (2014). Quantitative study of cross-contamination with *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157, MS2 phage and murine norovirus in a simulated fresh-cut lettuce wash process. **Food Control**. 37, 218-227, 2014.

JONES J. L.; DUBEY J. P. Waterborne toxoplasmosis-recent developments. **Experimental Parasitology**. 124: 0–25, 2010.

KESKINEN L. A. et al. Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 from lettuce leaves. **International Journal of Food Microbiology**. 132(2-3):134-40, 2009.

MARINS B. R. et al (Org.). **Segurança alimentar no contexto da vigilância sanitária: reflexões e práticas**. Rio de Janeiro: Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio; 2014. 288 p.

MIMS, C.; et al. **Microbiologia médica**. São Paulo: Editora Monole, 1999. 584p.

OLIVEIRA C. A. F.; GERMANO P. M. L. Estudo da ocorrência de enteroparasitos em hortaliças comercializadas na região metropolitana de São Paulo – SP, Brasil. I – Pesquisa de helmintos. **Revista de Saúde Pública**. 26: 283-289, 1992.

ONO L. M. et al. Ocorrência de helmintos e protozoários em hortaliças cruas comercializadas no município de Guarapuava, Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**. 26: 543-546, 2005.

PALÚ, A. P. et al Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças, servidas em restaurantes *self-service* privados da Universidade Federal do Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**. 6(100)67-74, 2002.

RODRIGUES, D. G. et al. Avaliação de dois métodos de higienização alimentar. **Revista Saúde e Pesquisa**. 4(3)341-350, 2011.

SALA F.C.; COSTA C. P. Retrospectiva e tendência da alfacicultura brasileira. **Horticultura Brasileira**. 30(2):187-94, 2012.

SANTANA L. R. R. et al. Qualidade física, microbiológica e parasitológica de alfaces (*Lactuca sativa*) de diferentes sistemas de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 26: 264-266, 2006.

SILVA, C. G. M. et al. Ocorrência de *Cryptosporidium* spp e outros parasitas em hortaliças consumidas in natura no Recife. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**. 10: 63-69, 2005.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela; 2007.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tóquio, 1994. 84 p.

CAPÍTULO II

Análise microbiológica e parasitológica de alface lisa (*Lactuca sativa* L.) oriundas de sistemas de produção convencional do Município de Teixeira, semiárido Paraibano

Manuscrito submetido ao periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira

Análise microbiológica e parasitológica de alface lisa (*Lactuca sativa* L.) oriundas de sistemas de produção convencional do Município de Teixeira, semiárido Paraibano

*Microbiological and parasitological analysis of smooth lettuce (*Lactuca sativa* L.) from conventional production systems of the city of Teixeira, semi-arid Paraibano*

Lamartine José Brito Medeiros⁽¹⁾, Pablo da Costa Sousa⁽¹⁾, Álisson José Damasceno Morato⁽¹⁾, Newcélia Paiva Barreto⁽¹⁾, Onaldo Guedes Rodrigues⁽¹⁾ e Ana Célia Rodrigues Athayde ⁽¹⁾,

¹Universidade Federal de Campina Grande - Patos, PB

E-mail: lamartinevet01@gmail.com

Resumo – O objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência de contaminação microbiológica e parasitológica em alface lisa (*lactuca sativa* L.) provenientes de sistema convencional no Município de Teixeira, semiárido da Paraíba, Brasil. Foram realizadas análises microbiológicas e parasitológicas em 15 amostras de alface. Desse total, 90% (14) foram satisfatória ao consumo de acordo com Resolução – RDC de n° 12 de Janeiro de 2001, da ANVISA. Para as análises parasitológicas, o método de sedimentação revelou a presença de formas imaturas de nematódeos e protozoários, sendo identificados parasitos como o *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.* e protozoários como *Giardia* e *Toxoplasma*. Conclui-se que as alfaces analisadas apresentaram uma baixa frequência de amostras insatisfatórias diante da realização de testes microbiológicos, contudo a presença de parasitas patogênicos ao homem é um indicativo de que as hortaliças são problema de saúde pública estando envolvidas em várias doenças transmitidas pelos alimentos, havendo a necessidade de melhor fiscalização e orientação no setor hortifrutigranjeiro.

Introdução

As hortaliças exerce um importante papel na mesa do brasileiro por serem fontes de fibras, vitaminas e minerais (Rodrigues, 2012). A alface é a hortaliça folhosa mais consumida no Brasil e no mundo (Sala & Costa, 2012). É de fácil aquisição, tem bom sabor, qualidade nutritiva (rica em sais de cálcio e de ferro, vitaminas B1, B2, B6, C e pró-vitamina A) e possui propriedades laxativas, diuréticas e lenitivas, além de propiciar sabor agradável e refrescante (Keskinen et al., 2009).

Contudo, o alimento deve satisfazer às exigências de qualidade do consumidor, possuindo adequado valor nutricional, aparência, além de boas condições de higiene e sanidade. Atualmente as hortaliças têm sido um dos alimentos mais relacionados a surtos de toxinfecção alimentar em nível mundial, especialmente por serem incriminadas como veículos de microrganismos patogênicos de significância em saúde pública como *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Listeria sp.*, *Shigella sp.* e também parasitos (Abreu et al., 2010), sendo o solo a principal fonte de contaminação desses vegetais (Arbos et al., 2010).

O alimento seguro é definido como aquele próprio para consumo por se apresentar livre de substâncias, organismos, matérias ou ainda que esteja isento de qualquer ação de fraude que possa resultar em danos físicos, psicológicos ou qualquer agravo à saúde do ser humano, atendendo assim a um padrão de qualidade na perspectiva de inocuidade (Robbs et al., 2002).

Dessa forma, os cuidados com a qualidade do produto envolvem todas as etapas, que vão desde a produção até o consumo do alimento. Dentro deste universo de fatores, grande parte dos problemas estão ligados a descuidos com a saúde dos manipuladores, falta de higiene no manuseio e ausência de preservação adequada dos alimentos (Silva Jr, 2013).

Considerando o interesse pelo consumo alimentar de hortaliças e a preocupação com a qualidade desses alimentos, este trabalho teve como objetivo investigar a ocorrência de contaminação microbiológica e parasitológica em alface lisa (*Lactuca sativa* L.) provenientes de sistema convencional no semiárido da Paraíba, Brasil.

Material e Métodos

As coletas foram realizadas nos meses de agosto, setembro e outubro de 2016 em três propriedades diferentes na zona rural do município de Teixeira-PB (07° 11' 10" a 07° 21' 23" S e 37° 08' 22" a 37° 25' 33" W), localizado na mesorregião do Sertão Paraibano e na microrregião da Serra do Teixeira. O clima da região é do tipo Aw' (tropical quente e úmido). A temperatura média anual circunda entre 23°C a 24°C e pluviometria média anual de 714,6 mm (CPRM, 2005).

Foram analisadas 15 amostras de alfaces-lisa (*Lactuca sativa* L.) de plantio convencional. Em cada propriedade foram coletadas 5 amostras, considerando-se como unidade amostral um pé inteiro de alface. As amostras foram coletadas, identificadas, acondicionadas em sacos plásticos de primeiro uso e encaminhadas em caixa

isotérmicas (Falavigna et al., 2005) para realização das análises microbiológica e parasitológica nos Laboratórios de Microbiologia e Parasitologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas - Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) - Patos.

Cada amostra foi desfolhada, desprezando as folhas queimadas, danificadas e talos. Para as análises microbiológicas seguiu-se o recomendado por Standard Methods (Silva et al., 2007). Pesou-se assepticamente 10 gramas de cada amostra e foi misturada a 90 ml de água peptonada a 0,1% esterilizada até a homogeneização, obtendo-se assim a diluição de 10^{-1} . A partir dessa diluição, foram realizadas as demais diluições em série até a obtenção da diluição 10^{-5} , transferindo-se 1 mL de cada diluição para tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1%.

O teste presuntivo de coliformes foi feito por meio da técnica do Número Mais Provável (NMP). Utilizou-se o caldo lauril sulfato (LST) em concentração simples. Três séries de três tubos contendo o caldo LST com tubos de Durhan invertidos foram inoculadas com 1 mL das diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} . Incubaram-se os tubos a 36°C por 24 - 48 h. Após o tempo de incubação, a suspeita da presença de coliformes foi verificada nos tubos com formação de gás em fração de no mínimo 1/10 dos tubos de Durhan. Para o teste confirmativo de coliformes totais, repicou-se cada tubo positivo, na prova presuntiva, para tubos contendo caldo verde brilhante lactose bile (VBLB) 2%, seguida de incubação a $37^{\circ}\text{C}/24$ ou 48 h, a confirmação se deu de forma idêntica a da prova presuntiva.

Para o teste confirmativo de coliformes termotolerantes, repicou-se cada tubo positivo no teste presuntivo para o caldo EC com tubos de Durhan invertidos e incubaram-se os tubos por 24 h a 45°C , a confirmação foi feita igual à prova presuntiva. O número mais provável foi estimado usando a tabela específica para o teste na faixa 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , considerando os valores encontrados uma casa decimal anterior e multiplicando o resultado por 1000.

A pesquisa de *E. coli* foi realizada através da repicagem para Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), incubada a $35-37^{\circ}\text{C}/24$ h para observação do crescimento de colônias típicas de *E. coli*. A confirmação de *E. coli* foi realizado através da coloração de Gram e de testes bioquímicos, a partir de colônias puras crescidas em Ágar Padrão para Contagem (PCA) a $35^{\circ}\text{C}/24$ h. Os testes bioquímicos utilizados foram: Indol, Voges-Proskauer, Citrato e Vermelho de metila.

A pesquisa de *Salmonella* spp. foi realizada de acordo com as metodologias analíticas descritas em compêndios oficiais (Bacteriological Analytical Manual Online, 2001) afim de verificar a ausência ou presença em 25g da amostra que foi homogeneizada em água peptonada tamponada incubada a 35°C durante 24 horas.

Quanto as análises parasitológicas, inicialmente, cada folha foi lavada com 100ml de água destilada, o líquido resultante da lavagem foi filtrado em gaze sob um cálice de sedimentação e foi completado com água destilada até o volume de 1000ml, deixado em repouso por 24 horas. Após o tempo de sedimentação, foram preparadas lâminas para cada uma das amostras, em duplicata e analisadas ao microscópio óptico em aumento de 10x. Em seguida à leitura das lâminas, foi feita a tabulação dos dados para melhor visualização e entendimento dos resultados. Para a identificação das estruturas parasitárias foram realizadas de acordo com Ueno & Gonçalves (1994).

Os dados da análise microbiológica foram agrupados e tratados pelo programa Excel® para estabelecimento de frequência simples e percentual.

Resultados e Discussão

O presente estudo, realizado nas condições de região semiárida, mostrou que das 15 amostras de alfaces-lisa (*Lactuca sativa* L.) 90% (14) foram satisfatória ao consumo de acordo com Resolução – RDC de nº 12 de Janeiro de 2001 da ANVISA (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados das análises dos microrganismos coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Salmonella* spp pesquisados na alface (*Lactuca sativa*). Teixeira-PB, 2017

Fonte	Microrganismos				
	Col. Totais (NMP/g)	Col. termotolerantes (NMP/g)	Resol. N° 12 jan. de 2001	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella ssp.</i>
Produtor 1					
1	4,6	0,09	Satisfatório	-	ausência em 25g
2	0,03	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
3	0,43	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
4	2,4	0,07	Satisfatório	-	ausência em 25g
5	≥ 24	0,43	Satisfatório	-	ausência em 25g
Produtor 2					
1	< 0,03	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
2	0,04	0,04	Satisfatório	-	ausência em 25g
3	< 0,03	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
4	< 0,03	0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
5	< 0,03	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
Produtor 3					
1	0,03	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
2	2,4	0,04	Satisfatório	-	ausência em 25g
3	0,09	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g
4	28	3	Insatisfatório	-	ausência em 25g
5	0,04	< 0,03	Satisfatório	-	ausência em 25g

Legenda: Satisfatório: houve crescimento até a diluição de 10²; Insatisfatório: houve crescimento acima da diluição de 10²; (-): negativo para *E. coli*.

Considerando os resultados das análises microbiológicas, a menor frequência de amostras insatisfatórias pode ser consequência de uma higienização prévia ou da melhoria na qualidade da higiene no plantio, como discutido por Carvalho et al.(2003).

Na região de realização do estudo as chuvas apresentam uma distribuição irregular, sendo que 82% de seu total concentra-se em quatro meses, de janeiro a abril (CPRM, 2005), dessa maneira, nos demais meses do ano a água destinada ao plantio de alface é proveniente de açude, sendo este um ponto questionável, pois não foi informado pelos produtores se a água utilizada passava por algum tratamento prévio.

Os resultados do presente estudo foram semelhantes aos de Nascimento et al. (2003) em hortaliças comercializadas em Campinas-SP e diferem do observado por Martins et al. (2008) e Oliveira et al. (2006) que constataram níveis elevados de coliformes termotolerantes acima do que a legislação permite.

Deve-se ressaltar que nesse estudo não foi isolado bactérias do gênero *Escherichia coli.*, assim como em estudos realizados por Amaro et al. (2006), ao avaliar as condições microbiológicas de alface e agrião no município de Murié – MG.

Não foi presenciada *Salmonella spp.* nas alfaces estando todas em conformidade com a legislação reportada. Trabalhos realizados Abreu et al. (2010) e Arbos et al. (2010) corroboram com esta pesquisa, pois também não evidenciaram *Salmonella spp* em alfaces provenientes de cultivo com adubação orgânica plantadas em áreas experimentais. Por outro lado, Coelho et al. (2007) presenciaram estas bactérias em 6% das alfaces convencionais comercializadas nos supermercados do município de Cuiabá-MT, em março de 2007, consideradas impróprias ao consumo. Salmonela é considerada patogênica por causar infecções alimentares tendo ação invasiva ao intestino humano ao aderir à mucosa do mesmo. Assim, a RDC nº12/ 20016 não permite sua presença nas hortaliças folhosas como também em outros alimentos.

Embora os índices de contaminação da maioria das amostras estejam abaixo do que determina a Resolução – RDC de nº 12 (BRASIL, 2001), salienta-se que a higiene das hortaliças apenas lavando-as em água é a prática mais comum para se obter um produto mais seguro nas residências. É de primordial importância, no entanto, que essa água tenha, antes de tudo, boa qualidade (Arbos et al., 2003). No caso do consumo de vegetais crus, em saladas ou sanduíches e, considerando os possíveis prejuízos que o produto contaminado pode causar à saúde, recomenda-se a sanitização com água clorada 100 a 200 ppm e posterior enxágue em água livre de contaminantes (Abreu et al., 2010).

Quanto as análises parasitológicas, o método de sedimentação revelou a presença de formas imaturas de nematódeos e protozoários (Tabela 1).

Tabela 2: Análises parasitárias encontradas nas amostras de alface (*Lactuca sativa* L.) em propriedades no município de Teixeira-PB, 2017.

PARASITOS ENCONTRADOS	PROPRIEDADES		
	01	02	03
<i>Toxocara spp.</i>	P	P	P
<i>Ancylostoma spp.</i>	P	P	P
<i>Ascaris SP.</i>	A	P	P
Cistos de <i>Giardia.</i>	A	A	P
Oocisto de <i>Toxolasma</i>	A	A	P

Legenda: A: ausência; P: Presença.

Pela morfologia dos ovos e cistos, constatou-se que as amostras de alfaces estavam contaminadas por estruturas de parasitos de cães como o *Toxocara spp.* e *Ancylostoma spp.* e protozoários como *Giardia* e *Toxoplasma* (Figura 1).

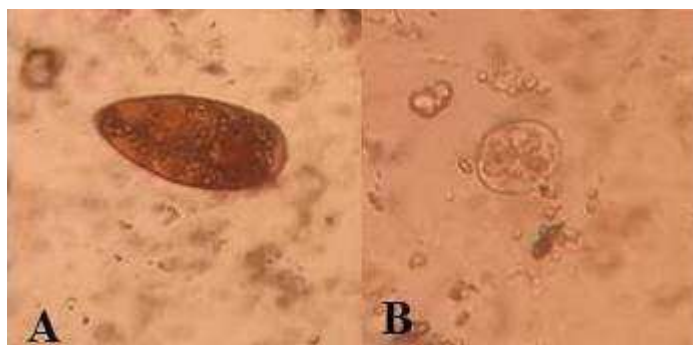


Figura 1: Ovos (A) e cisto (B) de nematóideo e protozoário. Fonte: Laboratório de Parasitologia da Unidade Acadêmica de Ciências Biológica – UFCG.

A presença de contaminação parasitária em alface também foi relatada por Guimarães et al (2003) e por Soares & Cantos (2006), em ambos os trabalhos, falhas higiênicas foram constatadas nas amostras analisadas, haja vista a presença de formas parasitárias de origem animal ou humana. Apesar de todo desenvolvimento tecnológico da agricultura e técnicas melhoradas de cultivo, a maioria dos horticultores trabalham com sistema tradicional de cultivo no solo, utilizando água em condições inadequadas na irrigação, adubos provenientes de fezes animais sem procedência, podendo conter bactérias multi-resistentes e parasitas patogênicos ao homem. Portanto as hortaliças são problema de saúde pública estando envolvidas em várias doenças transmitidas pelos alimentos, havendo a necessidade de melhor fiscalização e orientação no setor hortifrutigranjeiro.

Quanto aos níveis de positividade encontrados nesta pesquisa talvez resultem de atos que propiciam a contaminação nas diferentes etapas produtivas, incluindo o plantio, o transporte e a manipulação das alfaces (Takayanagui et al., 2006).

A ingestão de verduras cruas e contaminadas expõem ao risco de infecções e/ou infestações por parasitos estando os indivíduos susceptíveis ao desenvolvimento de doenças denominadas de helmintoses (Falavigna et al., 2005; Schweigert et al., 2008).

Conclusões

Conclui-se que as alfaces (*Lactuca sativa* L.) cultivadas no Município de Teixeira no semiárido paraibano, apresentaram uma baixa frequência de amostras insatisfatórias diante da realização de testes microbiológicos. Observou-se parasitas patogênicos ao homem em amostras de todas as três propriedades analisadas, havendo então a necessidade de melhorias no sistema de manejo desses hortigranjeiros, através de cursos de capacitação para os produtores, bem como um sistema melhor de fiscalização pelos órgãos competentes.

Referências

Abreu, I.M. O.; Junqueira, A.M.R.; Peixoto, J.R.; Oliveira, S.A. Qualidade microbiológica e produtividade de alface sob adubação química e orgânica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p.108-18, 2010.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos e seus anexos I e II. Diário Oficial União. 10 jan 2001;Seção 1:45.

Amaro, D. X.; Almeida, A. B.; Souza, J. M. De; Póvoa, H.; Arêdes, E. M. Avaliação da qualidade microbiológica de alface e agrião comercializado no município de Muriaé-MG. **Revista científica da FAMINAS**, v.2, p.27, 2006.

Arbos K.A.; Freitas, R.J.S.; Stertz, S.C.; Carvalho, .LA. Segurança alimentar de hortaliças orgânicas: aspectos sanitários e nutricionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, p.215-20, 2010.

Bacteriological Analytical Manual Online, 2001. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-4.html>>. Acesso em 15 abril 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA. **Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001.** Dispõe sobre regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos.

Carvalho, J.B.; Nascimento, E.R.; Ribeiro, V.R.; Nogueira Neto, J.F.; Carvalho, I.S.; Carvalho, F.S. et al. Presença de ovos de helmintos em hortaliças fertilizadas com lodo e lagoa de estabilização. **Rev Bras Anal Clin**, v.35, p.101-3, 2003.

Coelho, E.M.; LIMA, M. G.; ROSA, O.O. Avaliação da qualidade microbiológica de alface (*Lactuca sativa* L.) em plantio direto e hidropônico. **Revista Higiene Alimentar**. 21(149) 94-98, 2007.

CPRM – Serviço Geológico do Brasil. **Projeto Cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea. Diagnóstico do município de Teixeira, estado da Paraíba.** Org. João de Castro Mascarenhas, Breno Augusto Beltrão, Luiz Carlos de Souza Júnior, Franklin de Moraes, Vanildo Almeida Mendes, Jorge Luiz Fortunato de Miranda. Recife: CPRM/PRODEEM, 2005. 19 p.

Falavigna L.M.; Freitas, C.B.R.F. de; Melo, G.C. de; Nishi, L.; Araújo, S.M. de; Falavigna-Guilherme, A.L. Qualidade de hortaliças comercializadas no noroeste do Paraná, Brasil. **Parasitol Latinoam**, v.60, p.144-149, 2005.

Guimarães, A.M.; Alves, E.G.L.; Figueiredo, H.C.P.; Costa, G.M.; Rodrigues, L.S. Frequência de enteroparasitas em amostras de alface (*Lactuca sativa*) comercializadas em Lavras, Minas Gerais. **Rev Soc Bra. Med Trop**, v.36, p. 621-3, 2003.

Keskinen, L.A.; Burk, A.; Annous, B.A. Efficacy of chlorine, acidic electrolyzed water and aqueous chlorine dioxide solutions to decontaminate *Escherichia coli* O157:H7 from lettuce leaves. **Int J Food Microbiol**, v.132, p.134-40, 2009.

Martins, A.C.A.; Silva, L.A. Da; Santos, J.G.Dos; Andrade, L.F.De; Martins, L.P. **Avaliação da qualidade microbiológica da alface (*Lactuca sativa*) comercializada na cidade de Bananeiras - PB**, III Jornada Nacional da Agroindústria, agost. 2008, ISSN 1980-1122.

Nascimento, M.S.; Silva, N.; Catanozi, M.P.L.M. Avaliação microbiológica de frutas e hortaliças frescas, comercializadas no município de Campinas-SP. **Higiene Alimentar**, v.17, p.73-76, 2003.

Oliveira, M.L.S.; Figueiredo, E.L. Análise microbiológica de alface (*Lactuca sativa*, L.) e tomate (*Solanum lycopersicum*, L.) comercializados em feiras-livres da cidade de Belém, Pará. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.20, n.143, p.96-101, 2006.

Robbs, P.G.; Silva Junior, E.A.; Paranaguá, M.M.M.; Lima Filho, J.B. APPCC mesa: as boas práticas do campo à mesa. **Rev Nutr Pauta**, v.53, p.9-15, 2002.

Rodrigues P. **A importância nutricional das hortaliças**. Gama: Embrapa Hortaliças, 2012. 16p. Disponível em: <https://www.embrapa.br/documents/1355126/2250572/revista_ed2.pdf/74bbe524-a730-428f-9ab0-ad80dc1cd412>. Acesso em: 15 de abr. 2017.

Sala F.C.; Costa C. P. Retrospectiva e tendência da alfacultura brasileira. **Horticultura Brasileira**. v.30, p.87-94, 2012.

Schweigert, A.; Balestrin, R.; Cavalheri, V.M.; Igarashi, M. Estudo da ocorrência de enteroparasitas em variedades de alfaces (*Lactuca sativa*) comercializadas na feira do produtor de Campo Mourão – PR e padronização de Técnica para a procura de ovos. **Camp Dig**, v.1, p. 86-89, 2008.

Silva, N.; Junqueira, V.C.A.; Silveira, N.F.A.; Taniwaki, M.H.; Santos, R.F.S.; Gomes, R.A.R. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela; 2007.

Silva Junior, E.A. Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação. 6a ed. São Paulo: Varela; 2013.

Soares, B.; Cantos, G.A. Detecção de estruturas parasitárias em hortaliças comercializadas na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. **Rev Bras Ciênc Farm**, v.42, p.455-60, 2006.

Takayanagui, O.M.; Capuano, D.M.; Oliveira, C.A.D.; Bergamini, A.M.M.; Okino, M.H.T.; Castro e Silva, A.A.M.C.; Oliveira, M.A.; Ribeiro, E.G.A.; Takayanagui, A.M.M. Análise da produção de verduras em Ribeirão Preto, SP. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 39, p.224-226, 2006.

Ueno, H.; Gonçalves, P.C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tóquio, 1994. 84 p.

CONCLUSÃO GERAL

Este trabalho é o primeiro a avaliar o perfil microbiológico e parasitológico de alface lisa (*Lactuca sativa* L.) nos municípios de Patos e Teixeira, na região semiárida do Nordeste brasileiro, ajudando assim a conhecer as condições higiênico sanitárias desse vegetal e obter maiores informações sobre os agentes causadores de DTAs.

Os níveis de contaminação identificados nas análises microbiológicas mostraram-se mais elevados nas amostras pertencentes ao município de Patos quando comparado ao município de Teixeira, não atendendo as exigências da ANVISA, estando assim inaptos para fins de consumo *in natura*.

As análises parasitológicas revelarem presença de parasitas patogênicos ao homem em amostras de ambos os municípios.

De posse de tais informações, podemos sugerir que os fatores relacionados a contaminação possam estar relacionados ao sistema de produção, de forma que é necessário estudos mais aprofundados, analisando desde a qualidade da água utilizada para irrigação, quantidade de insumos (matéria orgânica), higiene e orientação dos manipuladores, bem como necessita-se de um sistema melhor de fiscalização pelos órgãos competentes.

ANEXOS

ANEXO I
Documento comprobatório de submissão (Artigo I)

Ciência e Agrotecnologia

Ciência e Agrotecnologia

**MICROBIOLOGICAL AND PARASITOLOGICAL
CHARACTERIZATION OF SMOOTH LETTUCE (LACTUCA
SATIVA L.) PRODUCED BY HORTICULTURAL WORKERS FROM
SERTÃO OF PARAÍBA**

Journal:	<i>Ciência e Agrotecnologia</i>
Manuscript ID:	CAGRO-2017-0200
Manuscript Type:	Original Article
Keyword:	vegetables, health profile, parasites, coliforms, food hygiene

SCHOLARONE[™]
Manuscripts

Preview Only

ANEXO II

Normas do periódico Ciência e Agrotecnologia

A publicação de artigos dependerá da observância das Normas Editoriais, dos pareceres do Corpo Editorial e da Comissão *ad hoc*. Todos os pareceres têm caráter sigiloso e imparcial, e tanto os autores quanto os membros do Corpo Editorial e/ou Comissão *ad hoc* não obtêm informações identificadoras entre si.

Forma de preparação dos manuscritos

1. Os conceitos e afirmações contidos nos artigos são de inteira responsabilidade do(s) autor(es).

2. A *Ciência e Agrotecnologia* é uma revista científica, editada bimestralmente pela Editora da Universidade Federal de Lavras (Editora UFLA). Publica artigos científicos elaborados por membros da comunidade científica nacional e internacional, nas áreas de Ciências Agrárias, Zootecnia e Medicina Veterinária, Ciência e Tecnologia de Alimentos, Economia e Administração do Agronegócio e Engenharia Rural. É condição fundamental que os artigos submetidos não tenham sido e nem serão publicados simultaneamente em outro periódico. Com a aceitação do artigo para publicação, a revista adquire amplos e exclusivos direitos sobre o artigo para todas as línguas e países.

3. **Processo para publicação de artigos:** O artigo é inicialmente avaliado pelo Conselho Editorial quanto à relevância, comparativa a outros artigos da área de conhecimento submetidos para publicação. Apresentando relevância comparativa, o artigo é avaliado por consultores 'ad hoc' para emitirem seus pareceres. Aprovado por consultores, caso necessário, o artigo é enviado ao autor correspondente para atendimento das correções e/ou sugestões. Caso as correções não sejam retornadas no prazo solicitado, a tramitação do artigo será automaticamente cancelada. O não atendimento às solicitações dos consultores sem justificativas também leva ao cancelamento automático do processo de publicação do artigo. Após a aprovação das correções, o artigo é revisto quanto à nomenclatura científica, inglês, referências bibliográficas e português (resumo), sendo a seguir encaminhado para diagramação e publicação.

4. **Custo para publicação:** O custo da publicação é de R\$60,00 (sessenta reais) por página editorada (página impressa no formato final) até seis páginas e R\$120,00 (cento e vinte reais) por página adicional. No encaminhamento inicial, deve-se efetuar o pagamento de R\$120,00 (cento e vinte reais), **não reembolsável**, valor esse a ser descontado no custo final do artigo editorado (formato final). Por ocasião da submissão, deverá ser encaminhado o comprovante de depósito ou transferência bancária a favor de Fundecc/Livraria, Banco do Brasil, agência 0364-6, conta corrente 75.353-X. O comprovante de depósito ou de transferência bancária deve ser anexado no campo "**File Upload**".

5. O artigo deverá ser encaminhado via **eletrônica** (www.editora.ufla.br), editados em **língua inglesa** e deve-se usar somente nomenclaturas oficiais e abreviaturas consagradas. O artigo deverá ser digitado no processador de texto **Microsoft Word para Windows**, tamanho A4 (21cm x 29,7cm), espaço duplo entre linhas, fonte: Times New Roman, tamanho 12, observada uma margem de 2,5 cm para o lado esquerdo e de 2,5 cm para o direito, 2,5 cm para margem superior e inferior, 2,5 cm para o cabeçalho e 2,5 cm para o rodapé. Cada artigo deverá ter no **máximo 25 páginas** e junto do mesmo

deverá ser encaminhado ofício dirigido ao Editor Chefe, solicitando a publicação. Esse ofício deverá ser assinado por todos os autores, constando nome dos autores sem abreviação, a titulação e o endereço profissional completo (rua, nº, bairro, caixa postal, cep, cidade, estado, país e e-mail). Ao submeter o artigo, esse ofício deverá ser anexado no campo "**Cover Letter**". Qualquer futura inclusão, exclusão ou alteração na ordem dos autores deverá ser notificada mediante ofício assinado por todos os autores (inclusive do autor excluído, se o caso).

6. O **artigo** deverá conter os seguintes tópicos: a) **Título** (em letras maiúsculas) **em inglês e português**, escrito de maneira clara, concisa e completa, sem abreviaturas e palavras supérfluas. Recomenda-se começar pelo termo que represente o aspecto mais importante do trabalho, com os demais termos em ordem decrescente de importância; b) **NOME(S) DO(S) AUTOR(ES)** listado(s) no lado direito, um debaixo do outro, **sendo no máximo 6** (seis); c) **ABSTRACT** não deve ultrapassar **250** (duzentos e cinquenta) palavras e estar em um único parágrafo. **Deve conter pelo menos, breve introdução, objetivo(s) e resultados mais importantes**; d) **INDEX TERMS** contendo entre 3 (três) e 5 (cinco) palavras-chave em inglês que identifiquem o conteúdo do artigo, diferentes daquelas constantes no título e separadas por vírgula; e) **RESUMO** (versão em português do abstract); f) **TERMOS PARA INDEXAÇÃO** (versão em português dos index terms); g) **INTRODUCTION** (incluindo a revisão de literatura e objetivo); h) **MATERIAL AND METHODS**; i) **RESULTS AND DISCUSSION** (podendo conter tabelas e figuras); j) **CONCLUSION(S)**; k) **ACKNOWLEDGEMENT(S)** (opcional) com estilo sério e claro, indicando as razões dos agradecimentos; l) **REFERENCES** (sem citações de teses, dissertações e/ou resumos de congressos e de outros eventos).

7. **RODAPÉ**: Deve constar formação, instituição de vínculo empregatício, contendo endereço profissional completo (rua, número, bairro, Cx. P., CEP, cidade, estado, país e e-mail) do autor correspondente. Os demais autores devem informar o endereço profissional, cidade, estado e país.

8. **TABELAS**: Deverão ser providas de um título claro e conciso e construídos de modo a serem auto-explicativos. Não deverão usar linhas verticais. As linhas verticais devem aparecer para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma ao final da tabela. A tabela deve ser feita utilizando-se Microsoft Word (TABELA/INSERIR TABELA), no qual cada valor deve ser inserido em células distintas, estando centralizado e alinhado.

9. **Caso o artigo contenha fotografias, gráficos, figuras, símbolos e fórmulas, essas deverão obedecer às seguintes normas:**

Observação: Além de inseridas, no texto após a citação, foto, figura e gráficos deverão ser enviados em arquivos separados anexados no campo "manuscript files".

9.1 **Fotografias** podem ser **coloridas ou em preto e branco**, nítidas e com contraste, inseridas no texto, após a citação das mesmas, **salvas em extensão "TIFF" ou "JPEG" com resolução de 300 dpi**. Na versão impressa da revista, as fotografias sairão em **preto e branco**.

9.2 **Figuras** podem ser **coloridas ou em preto e branco**, nítidas e com contraste, inseridas no texto, após a citação das mesmas, **salvas em extensão "TIFF" ou "JPEG" com resolução de 300 dpi**. As figuras deverão ser

elaboradas com letra **Times New Roman, tamanho 10, sem negrito, sem caixa de textos e agrupadas**. Na versão impressa da revista, as figuras sairão em **preto e branco**.

9.3 **Gráficos** deverão ser inseridos no texto após a citação dos mesmos. Esses deverão ser elaborados preferencialmente em Excel, com letra Times New Roman, tamanho 10, **sem negrito, salvos em extensão XLS e transformados em TIFF ou JPG**, com resolução de 300 dpi.

9.4 **Símbolos e Fórmulas Químicas** deverão ser feitos em processador que possibilite a formatação para o programa **Adobe InDesign CS6** (ex: MathType), sem perda de suas formas originais.

10. CITAÇÃO BIBLIOGRÁFICA NO CORPO DO TEXTO: PELO SISTEMA ALFABÉTICO (AUTOR-DATA)

Dois autores: Silva and Leão (2014).

Três autores: Silva, Pazeto and Vieira, (2013).

Mais de três autores: Ribeiro et al. (2014).

Obs.: Quando dois autores de uma mesma obra forem citados na sentença, deve-se separá-los por (and), se não incluídos na sentença separá-los por ponto e vírgula (;). Se houver mais de uma citação no mesmo texto, deve-se apresentar os autores em ordem alfabética dos sobrenomes, seguidos pela data e separados por ponto e vírgula (;), por exemplo: Araújo (2010); Nunes Junior (2011); Pereira (2012) and Souza (2013).

11. **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:** A exatidão das referências constantes da listagem e a correta citação no texto são de responsabilidade do(s) autor(es) do artigo.

Orientações

gerais:

- O nome do periódico deve ser descrito por extenso e em negrito.
- Em todas as referências deve-se apresentar volume, número entre parênteses, página inicial e final e ano de publicação.
- As referências devem ser ordenadas alfabeticamente e "alinhadas à margem esquerda". Deve-se deixar espaçamento simples nas entrelinhas e duplo entre as referências.

EXEMPLIFICAÇÃO (TIPOS MAIS COMUNS):

ARTIGO DE PERIÓDICO:

-Até três autores:
PINHEIRO, A. C. M.; NUNES, C. A.; VIETORIS, V. Sensor maker: a tool for sensorial characterization of food products. **Ciência e Agrotecnologia**, 37(3):199-201, 2013.

-Mais de três autores:
MENEZES, M. D. de et al. Digital soil mapping approach based on fuzzy logic and field expert knowledge. **Ciência e Agrotecnologia**, 37(4):287-298, 2013.

LIVRO:

a) Livro no todo:
FERREIRA, D.F. **Estatística multivariada**. Lavras: Editora UFLA, 2008. 672p.

b) Capítulo de livro com autoria específica:
BERGEN, W.G.; MERKEL, R.A. Protein accretion. In: PEARSON, A.M.; DUTSON, T.R. **Growth regulation in farm animals**: advances in meat research. London: Elsevier Science, 1991. v.7, p.169-202.

c) Capítulo de livro sem autoria específica:
JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Tecido muscular. In: _____. **Histologia básica**. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 524p.

DISSERTAÇÃO E TESE:

Não utilizar citações de dissertações e teses.

TRABALHOS DE CONGRESSO E de OUTROS EVENTOS:

Não utilizar citações de trabalhos de congressos e de outros eventos.

DOCUMENTOS ELETRÔNICOS:

As obras publicadas somente *online* são referenciadas conforme normas específicas para cada tipo de documento, **acrescidas de informações sobre o endereço eletrônico apresentado entre braquetes (< >), precedido da expressão "Available in:" e da data de acesso ao documento, precedida da expressão "Access in:"**. Nota: "Não se deve referenciar material eletrônico de curta duração, na internet. Segundo padrões internacionais, a divisão de endereço eletrônico, no fim da linha, deve ocorrer sempre após barra (/).

a) Livro no todo
TAKAHASHI, T. (Coord.). **Tecnologia em foco**. Brasília, DF: Socinfo/MCT, 2000. Available in: <<http://www.socinfo.org.br>>. Access in: August, 22, 2000.

b) Parte de livro
TAKAHASHI, T. Mercado, trabalho e oportunidades. In: _____. **Sociedade da informação no Brasil**: livro verde. Brasília, DF: Socinfo/MCT, 2000. cap.2. Available in: <<http://www.socinfo.gov.br>>. Access in: August, 22, 2000.

c) Artigo de periódico (acesso online):

AVELAR, A.E.de; REZENDE, D.C.de. Hábitos alimentares fora do lar: um estudo de caso em Lavras MG. **Organizações Rurais & Agroindustriais**. 15(1):137-152, 2013. Available in: <<http://revista.dae.ufla.br/index.php/ora/article/view/652>> Access in: August, 18, 2014.

ANEXO III

Normas do periódico Pesquisa Agropecuária Brasileira

Escopo e política editorial

A revista Pesquisa Agropecuária Brasileira (PAB) é uma publicação mensal da Embrapa, que edita e publica trabalhos técnico-científicos originais, em inglês, resultantes de pesquisas de interesse agropecuário. A principal forma de contribuição é o Artigo, mas a PAB também publica Notas Científicas e Revisões a convite do Editor.

As submissões de artigos científicos, notas científicas e revisões (a convite do editor) devem ser encaminhadas via eletrônica e, **preferencialmente**, em inglês. No entanto, aqueles encaminhados em português ou espanhol terão que ser **obrigatoriamente traduzidos para o inglês** antes de serem publicados. **As despesas de tradução serão de responsabilidade dos autores.**

Análise dos artigos

A Comissão Editorial faz a análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica. Nessa análise, consideram-se aspectos como escopo, apresentação do artigo segundo as normas da revista, formulação do objetivo de forma clara, clareza da redação, fundamentação teórica, atualização da revisão da literatura, coerência e precisão da metodologia, resultados com contribuição significativa, discussão dos fatos observados em relação aos descritos na literatura, qualidade das tabelas e figuras, originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassa a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério é aplicado somente aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

Forma e preparação de manuscritos

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos (não terem dados – tabelas e figuras – publicadas parcial ou integralmente em nenhum outro veículo de divulgação técnico-científica, como boletins institucionais, anais de eventos, comunicados técnicos, notas científicas etc.) e não podem ter sido encaminhados simultaneamente a outro periódico científico ou técnico. Dados publicados na forma de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

- São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.

- Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

- O texto deve ser digitado no editor de texto Microsoft Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, com margens de 2,5 cm e com páginas e linhas numeradas.

Informações necessárias na submissão on-line de trabalhos

No passo 1 da submissão (Início), em “comentários ao editor”, informar a relevância e o aspecto inédito do trabalho.

No passo 2 da submissão (Transferência do manuscrito), carregar o trabalho completo em arquivo Microsoft Word.

No passo 3 da submissão (Inclusão de metadados), em “resumo da biografia” de cada autor, informar o link do sistema de currículos lattes (ex.: <http://lattes.cnpq.br/0577680271652459>). Clicar em “incluir autor” para inserir todos os coautores do trabalho, na ordem de autoria.

Ainda no passo 3, copiar e colar o título, resumo e termos para indexação (key words) do trabalho nos respectivos campos do sistema.

No passo 4 da submissão (Transferência de documentos suplementares), carregar, no sistema on-line da revista PAB, um arquivo Word com todas as cartas (mensagens) de concordância dos coautores coladas conforme as explicações abaixo:

- Colar um e-mail no arquivo word de cada coautor de concordância com o seguinte conteúdo:

“Eu, ..., concordo com o conteúdo do trabalho intitulado “.....” e com a submissão para a publicação na revista PAB.

Como fazer:

Peça ao coautor que lhe envie um e-mail de concordância, encaminhe-o para o seu próprio e-mail (assim gerará os dados da mensagem original: assunto, data, de e para), marque todo o email e copie e depois cole no arquivo word. Assim, teremos todas as cartas de concordâncias dos co-autores num mesmo arquivo.

Organização do Artigo Científico

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

- Artigos em português - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

- Artigos em inglês - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

- Artigos em espanhol - Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

- O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

- O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

Título

- Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.

- Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

- Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.

- Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.
- Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.
- As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos por bases de dados que catalogam a literatura.

Nomes dos autores

- Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção “e”, “y” ou “and”, no caso de artigo em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.
- O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

- São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.
- Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.
- Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

- O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos, os resultados e a conclusão.
- Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

- A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- Não devem conter palavras que componham o título.
- Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.
- Devem, preferencialmente, ser termos contidos no [AGROVOC: Multilingual Agricultural Thesaurus](#) ou no [Índice de Assuntos da base SciELO](#).

Introdução

- A palavra Introdução deve ser centralizada e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- O último parágrafo deve expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

- A expressão Material e Métodos deve ser centralizada e grafada em negrito; os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
- Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
- Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
- Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
- Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
- Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
- Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.
- Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.

Resultados e Discussão

- A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos em relação aos apresentados por outros autores.
- Evitar o uso de nomes de variáveis e tratamentos abreviados.
- Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.
- As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

- O termo Conclusões deve ser centralizado e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo.
- Devem ser elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- Não podem consistir no resumo dos resultados.
- Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

- A palavra Agradecimentos deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser breves e diretos, iniciando-se com “Ao, Aos, À ou Às” (pessoas ou instituições).
- Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

- A palavra *Referências* deve ser centralizada e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 6023 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.
- Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

- Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)
AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.
- Artigos de periódicos
SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.
- Capítulos de livros
AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BATISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.
- Livros
OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).
- Teses
HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Fontes eletrônicas
EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste: relatório do ano de 2003**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: . Acesso em: 18 abr. 2006.

Citações

- Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados. - A

autocitação deve ser evitada. - Devem ser normalizadas de acordo com a NBR 10520 da ABNT, com as adaptações descritas a seguir.

- Redação das citações dentro de parênteses
- Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.
- Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.
- Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.
- Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.
- Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.
- Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão "citado por" e da citação da obra consultada.
- Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.
- Redação das citações fora de parênteses
- Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

- Devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.
- Não devem apresentar letras em itálico ou negrito, à exceção de símbolos escritos convencionalmente em itálico.

Tabelas

- As tabelas devem ser numeradas seqüencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após as referências.
- Devem ser auto-explicativas.
- Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.
- Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.
- O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das variáveis dependentes.
- No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.
- Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.
- Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo.
- Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.

- Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em nota-de-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.
- Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usá-los ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares. Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.
- As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.
- Notas de rodapé das tabelas
- Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas ns (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

- São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- Devem ser auto-explicativas.
- A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.
- Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.
- Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração. - As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.
- Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.
- As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.

- Devem ser gravadas nos programas Word, Excel ou Corel Draw, para possibilitar a edição em possíveis correções.
- Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- Não usar negrito nas figuras.
- As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.